

乙型肝炎两对半定量检测结果分析

徐晓玲,陈 芳(四川省自贡市第三人民医院 643020)

【摘要】 目的 探讨时间分辨荧光免疫分析技术(TRFIA)乙型肝炎(下称乙肝)两对半定量检测的临床意义。**方法** 用 TRFIA 与酶联免疫法(ELISA)对 172 例临床标本同时检测,并进行对比分析。同时对 3 837 份临床标本进行 TRFIA 检测结果的分析。**结果** 两种方法检测结果经配对卡方检验差异无统计学意义($P>0.05$)。3 837 份临床标本其乙肝表面抗原(HBsAg)阳性率 14.73%,乙肝表面抗体(抗-HBs)浓度大于 100 mU/mL,占抗-HBs >10 mU/mL,比例为 49.58%。**结论** TRFIA 测定乙肝两对半具有灵敏、特异、定量、试剂稳定等优点,具有良好的应用价值。可同时定量检测进行正确分析,决定治疗的方案。

【关键词】 乙肝两对半; 定量; 分析
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.08.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)08-0902-03

Analysis of the quantitative test result of hepatitis B two fifty-fifty XU Xiao-ling, CHEN Fang (Third People's Hospital of Sichuan Zigong, 643020, China)

【Abstract】 Objective To study the clinical significance of time-resolved fluorescence immunoassay (TRFIA) on the quantitative test of hepatitis B two fifty-fifty. **Methods** 172 clinical samples were tested and analyzed by TRFIA and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Meanwhile, we analyzed the test result of 3 837 clinical samples by TRFIA. **Results** The results of the two methods showed no significant difference by paired chi-square test ($P>0.05$). The positive rate of hepatitis B surface antigen (HBsAg) from 3 837 clinical samples was 14.73%, and the concentration of hepatitis B surface antibody (HBsAb) >100 mU/mL accounted for 49.58% in HBsAb >10 mU/mL. **Conclusion** TRFIA test method is sensitive, specific, quantitative, reagents and stable, and is of good value for hepatitis B two fifty-fifty test. Quantitative test can be appropriately analyzed simultaneously to determine treatment strategy.

【Key words】 hepatitis B two fifty-fifty; quantitative; analysis

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是严重危害人类健康的病毒之一。HBV 可诱发一系列肝脏疾病,严重影响感染者的生活质量,给其家庭和社会带来沉重的负担^[1]。HBV 感染人体后,其治疗或干预常参考血清免疫学标志物,如血清学标志物 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc(俗称乙肝“两对半”)和 HBV DNA 等。乙肝“两对半”检测的敏感性 & 特异性可满足一般临床要求,且 HBV 两对半定性测定是目前临床分析和判断患者感染的重要依据之一,但近年研究发现:由于药物等因素的作用导致 HBV 变异株的出现,使得部分 HBV 感染者的血清学标志物复制状况难以判断,甚至漏检^[2]。因此,乙肝“两对半”的定性检测已愈来愈不能满足临床的需求。时间分辨荧光免疫分析技术(TRFIA)定量检测有利于指导临床对 HBV 感染的诊断、治疗方案的选择及疗效监测作出判定。本研究采用 TRFIA 和 ELISA 两种方法同时检测了 172 份临床标本,并对结果进行了对比观察,用 TRFIA 检测了临床标本 3 837 份并分析其结果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 标本来源 随机抽取来自本院门诊和临床科室需做乙肝“两对半”测定的标本 172 份,同时用 TRFIA 和 ELISA 分别作定量和定性测定。随机检测标本 3 837 份进行 TRFIA 定量检测。所有标本均采集静脉血,于当天分离血清进行检测。

1.2 试剂 上海新波生物技术有限公司生产的 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe 和抗-HBc 定量检测试剂盒;上海科华实业有限公司生产的 ELISA 法定性试剂盒;卫生部临检中心提供的 HBV 血清学标志物质控品,批号 200902001。

1.3 仪器 上海新波生物技术有限公司 SYM-810 型时间分辨荧光免疫分析仪及洗板机,深圳雷杜 RT-6100 酶标仪及 KT-3100 全自动洗板机。

1.4 方法 HBV 血清学标志物定量的 TRFIA 法和定性的 ELISA 法检测,均严格按照试剂盒各自说明书的要求,两种方法各自配以质控品和临床标本进行检测。

1.5 结果判定 ELISA 法定性结果参照试剂说明书中的判定方法,TRFIA 法检测的不同浓度标准品检测的结果:以 HBsAg >0.2 ng/mL,抗-HBs >10 mU/mL, HBeAg >0.5 PEIU/mL,抗-HBe >0.2 PEIU/mL,抗-HBc >0.9 PEIU/mL 判定为阳性,反之为阴性。

1.6 统计学方法 采用 SPSS11.0 软件统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用配对 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 本文资料显示 用 TRFIA 与 ELISA 对 172 例临床标本同时检测,两种方法的结果经配对 χ^2 检验,HBsAg $\chi^2=0.02$, $P>0.05$;抗-HBs $\chi^2=1.26$, $P>0.05$;HBeAg $\chi^2=0.00$, $P>0.05$;抗-HBe $\chi^2=0.11$, $P>0.05$;抗-HBc $\chi^2=0.11$, $P>0.05$;五项指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。两种方法的符合率最低的都超过了 90%,与文献报道一致^[12,15],见表 1。

表 1 两种不同方法阳性结果检测对比($n=172$)

检测项目	ELISA	TRFIA	符合率(%)
HBsAg	30	31	96.8
抗-HBs	105	115	91.3

续表 1 两种不同方法阳性结果检测比对(<i>n</i> =172)			
检测项目	ELISA	TRFIA	符合率(%)
HBeAg	15	15	100
抗-HBc	75	78	96.2
抗-HBe	68	71	95.8

2.2 TRFIA 法的敏感性 用 0.2 ng/mL HBsAg, 10.0 mIU /mL抗-HBs,0.5 PEIU /mL HBeAg,0.2 PEIU /mL 抗-

HBe 和 0.9 PEIU /mL 抗-HBc 标准样品进行 TRFIA 法均可检出,而 ELISA 法除 HBsAb 为可阴可阳(cut off 的±10%)外,其余均未检出。
2.3 TRFIA 法检测 3 837 份标本的检测结果 HBsAg 阳性率为 14.7%,抗-HBs 的阳性率为 58.8%(抗-HBs>10 mU/mL为阳性),HBeAg 阳性率为 2.2%,抗-HBe 的阳性率为 43.1%和抗-HBc 阳性率为 36.1%,见表 2。3 837 份标本定量检测结果的模式构成见表 3。

表 2 3 837 份标本检测项目综合分析

项目	阳性数	阴性率(%)	阳性率(%)	均值	方差	标准差
HBsAg	565	85.3	14.7	25.335	4 442.498	66.652
抗-HBs	2 256	41.2	58.8	155.574	71 972.512	268.277
HBeAg	85	97.8	2.2	1.501	105.421	10.267
抗-HBe	1 654	56.9	43.1	0.513	0.463	0.68
抗-HBc	1 387	63.9	36.1	1.421	2.463	1.569

表 3 3 837 份标本抗-HBs>100 mU/mL 检测结果的模式构成比

模式	<i>n</i>	比例(%)	例数	占抗-HBs>10 mU/mL 的比例
1、3、5* 阳性	85	2.22	—	—
1、4、5* 阳性	447	11.65	—	—
1、5* 阳性	20	0.52	—	—
1、2、4、5* 阳性	13	0.34	—	—
2* 阳性	1 235	32.19	606	49.07
2、4* 阳性	468	12.20	237	50.64
2、4、5* 阳性	540	14.07	269	49.81
4、5* 阳性	186	4.85	—	—
5* 阳性	96	2.52	—	—
全阴性* *	749	19.52	—	—
合计	3 837	100.00	1 112	49.58

注: * 1 代表 HBsAg、2 代表抗-HBs、3 代表 HBeAg、4 代表抗-HBe、5 代表抗-HBc。* * 代表乙肝两对半全部为阴性。—表示无数据。

3 讨 论

ELISA 方法对乙肝两对半血清标志物定性测定,受检抗原抗体“定性”不是“阴性”和“阳性”^[3],无法真实得知感染者体内乙肝“两对半”的具体浓度,给临床治疗及效果判断带来许多不便。而 HBV 血清标志物定量检测能较为准确地反映其感染者体内的含量,可以间接反映体内 HBV 复制活跃程度,对临床药物疗效评价具有重要意义。
HBV 感染引起的肝炎是我国最突出的公共卫生问题之一,《2006~2010 年全国病毒性肝炎防治规划》中提出要在 2010 年将全国人群乙肝表面抗原携带率控制在小于 7%的目标^[4]。因而需采用准确、能缩短窗口期的方法进行检测,及早进行预防和控制是当前形势所趋。用 TRFIA 定量检测 HBsAg 能满足要求。本文比对的 172 例标本中有 2 份 HBsAg 低浓度的标本,3 837 份标本中有 8 份 HBsAg 低浓度的标本,由 TRFIA 检测出,而 ELISA 方法检测为阴性,浓度均在 0.21~0.51 ng/mL 之间与文献^[10]一致,采用灵敏度高的方法其检出率高。
乙肝两对半血清模式是人体对 HBV 的免疫状态的血清

学表现,对乙型肝炎的临床分型、病情检测、疗效观察都具有重要的指导意义^[5]。3 837 份标本检测的 HBsAg 总阳性率 14.7%,高于文献^[4]报道,这可能与研究对象是就医患者有关。
抗-HBs 的定量测定能够对抗体是否真正具有“中和”HBV 的免疫力作出正确评估,对乙肝的预防起到监督作用。HBsAb 的含量在 10 mU /mL 以上感染者 ELISA 检测即可呈阳性结果,但并不提示机体都一定具有免疫力,而抗-HBs 的含量在 10~100 mU /mL 之间的样本,定性虽为“阳性”,但此时机体对 HBV 的免疫力较弱,甚至不能预防 HBV 感染^[6]。只有抗-HBs 的含量达到 100 mU /mL 以上时才可确定具有抵抗 HBV 入侵的作用。作定量检测,可根据抗-HBs 的含量判断机体对 HBV 的免疫状态及乙肝疫苗的免疫效果。因此定量测定对乙肝疫苗免疫力的评价和高危人群预防免疫具有重要意义,特别是在少年儿童和进行特殊性职业的预防乙肝方面。本文资料显示抗-HBs 浓度大于 10 mU /mL 的 2 256 例,占 58.8%,其中抗-HBs 浓度大于 100 mU/mL 的 1 112 例(有抵抗 HBV 感染能力),占抗-HBs 浓度(均值和标准差为 155.574 mU/mL 和 268.277)大于 10 mU/mL 的 49.58%,占被检例数的 28.98%,低于中国病毒性乙型肝炎的流行现况显示全国人群 HBsAb 阳性率为 50.09%(有抵抗 HBV 感染能力)^[7],这可能与研究对象是就医患者而不是普通人群的筛查有关。中国是乙型肝炎高发地区,乙肝疫苗纳入计划免疫虽大大降低了群体的 HBV 感染率,但疫苗的效果因人而异,并且 HBsAb 滴度逐年下降,乃至消失。使用 TRFIA 法对抗-HBs 进行定量检测,有助于及时、准确地了解个体乙肝免疫的状态,进一步采取相应的免疫措施^[8-10]。研究资料显示,抗-HBs 阳性的有半数人群对乙肝有免疫能力,有半数的人群抗-HBs 浓度在 10~100 mU/mL 之间,对 HBV 病毒无抵抗力,需要进行乙肝疫苗的预防接种或加强接种。
本文 3 837 份标本中检测有 13 份 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性的 HBsAb 浓度都低于 100 mU/mL,只有 1 份的抗-HBs 浓度高于 100 mU/mL,此时说明多数感染者的对 HBV 的抵抗能力弱。定量检测 HBsAg 可发现低浓度的 HBsAg 携带者

尤其是一些特殊人群^[11-12],定量分析 HBsAg 和抗-HBs 的浓度变化,可预见急性乙肝是否处于恢复期^[13-14]。

检测抗-HBc 可以反应病毒感染的状态,高浓度的抗-HBc 提示乙肝急性感染,恢复期浓度较低,慢性乙肝呈抗-HBc 持续高浓度;而低浓度的抗-HBc 一般为恢复期或既往感染^[7]。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006.

[2] 鲍俊杰. 酶联免疫吸附测定法与化学发光微粒子免疫分析法检测广州地区儿童 HBsAb 结果分析[J]. 中西医结合肝病杂志,2009,19(1):44-46.

[3] 崔清潭,陈静波,李泽仙,等. 免疫电化学发光分析技术检测乙肝两对半结果的模式分析[J]. 中国临床医药研究杂志,2006,148(3):79-80.

[4] 瞿良. 乙肝血清学标志物定量检测及其临床意义[J]. 现代医学检验杂志,2007,22(6):88-90.

[5] 马红霞,周运恒,杨茵,等. ELISA 法和电化学发光免疫法检测血清 HBsAg 结果比较分析[J]. 检验医学,2010,25(6):473-474.

[6] 罗开忠,杨旭,苏先师,等. 时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒标志物[J]. 中华肝病杂志,2003,11(9):569-571.

[7] 万兵飞. 乙肝两对半定量检测及临床意义[J]. 实用医技杂志,2006,13(1):43-45.

[8] 胡国茂,胡章学. 化学发光免疫分析定量检验乙肝病毒标志物方法学研究[J]. 标记免疫分析与临床,2004,11(3):157-159.

[9] 张丽民. 化学发光标记及发光免疫分析[J]. 基础医学与临床,1995,15(4):201-203.

[10] 孙南雄,黄诤瑚,刘雁雁,等. 乙型肝炎患者 957 例血清学标志物分析[J]. 中华医学检验杂志,1999,9:22(5):296-298.

[11] 邓志峰,韦祖兴,刘行超,等. 时间分辨荧光免疫分析法定量测定乙肝两对半[J]. 华夏医学,2007,20(1):119-120.

[12] 谭业克,宋桂芬,孟广源,等. 时间分辨进行乙肝“两对半”定量检测的应用价值[J]. 基层医学论坛,2006,10(15):424-425.

[13] 柳光芬. 化学发光免疫技术对乙型肝炎两对半定量检测的临床意义[J]. 检验医学与临床,2009,14(6):1181-1182.

[14] 瞿良,王惠萱. 乙肝血清学标志物定量检测及其临床意义[J]. 现代医学检验杂志,2007,22(6):88-90.

(收稿日期:2010-12-22)

(上接第 901 页)

始呈上升趋势,而在室温条件下精浆 AST 活性极不稳定,从第 2 天开始呈下降趋势,见图 1。

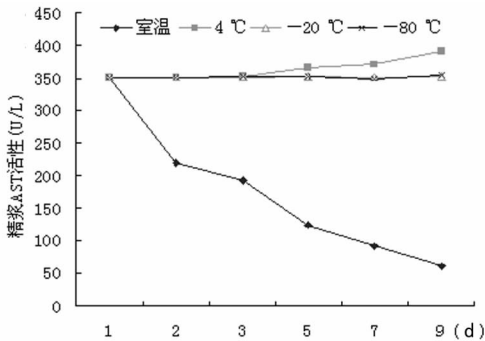


图 1 不同保存温度条件下精浆 AST 活性变化趋势

3 讨 论

影响酶的因素很多,主要因为酶蛋白不稳定,易失活,凡是导致其降解失活的处理因素都会影响其测定结果。大部分酶在低温中比较稳定,分离精浆如果不能及时测定,应放置冰箱内存,以确保酶活性的稳定。

在本次实验中,从结果可见在-20 °C 和-80 °C 温度条件下,精浆 AST 的活性较为稳定,天间的测定结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明精浆 AST 在-20 °C 和-80 °C 温度条件下密封保存 9 d,酶的活性较为稳定。在 4 °C 温度条件下,虽然天间的测定结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),但精浆 AST 活性从第 5 天开始呈上升趋势,与相关文献报道较为相近^[2-3]。而室温条件下,精浆 AST 的活性变化较大,从第 2 天开始酶的活性呈下降趋势,第 3、5、7、9 天分别与第 1 天比较差异有统计学意义($P<0.05$),说明精浆 AST 在室温条件下酶的活性不稳定。由于精液成分复杂,影响精浆中 AST 活性变化的因素较多,在精液收集过程中的细菌污染也是其中之

一^[4-6]。在实验中也观察到室温条件下,第 2 天以后的精浆样本的颜色发生明显变化,可能是精浆受到细菌污染,细菌繁殖发酵酶蛋白,从而导致精浆中的 AST 降解失活,使精浆 AST 的活性下降趋势^[7-8]。

由此可见,在-20 °C 和-80 °C 温度条件下精浆 AST 的活性比较稳定。在临床检验中,若检测精浆 AST 活性,应及早测定,或在-20 °C 和-80 °C 温度条件下保存,以保证精浆 AST 活性的稳定。

参考文献

[1] 熊承良. 人类精子学[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2002,99-124.

[2] 陈中平. 血标本放置时间与方式对 10 项血生化检测的影响[J]. 检验医学与临床,2006,3(9):443-444.

[3] 马丽旭. 血液标本保存时间对生化检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2007,4(8):800-801.

[4] 郭应禄,李宏军. 男性不育症[M]. 北京:人民军医出版社,2003:295-298.

[5] Howes L, Johes R. Interactions between zona pellucida glycoproteins and sperm proacrosin/acrosin during fertilization[J]. J Reprod Immunol,2002,53(1-2):181-192.

[6] 刘睿智,沙艳伟,许宗革,等. 男性不育者精子顶体酶活性影响因素分析[J]. 吉林大学学报:医学版,2003,29(5):567-568.

[7] 张海峰,李建忠,张春影. 精浆抗精子抗体阳性不育患者顶体酶、一氧化氮合酶及超氧化物歧化酶活力变化研究[J]. 中华男科学杂志,2006,12(4):349-351.

[8] 邓天勤,黄永汉,李颖嫦. 精浆生化检测在 262 例梗阻性无精子症分析中的意义[J]. 检验医学与临床,2009,6(2):929-931.

(收稿日期:2010-12-18)